



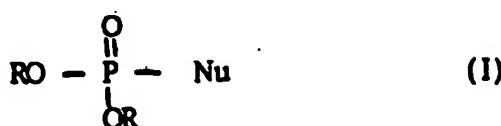
AM

REMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets 5 : C07H 19/10, 19/20, C07F 9/6561 A61K 31/70		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 93/24510 (43) Date de publication internationale: 9 décembre 1993 (09.12.93)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR93/00498 (22) Date de dépôt international: 24 mai 1993 (24.05.93)		(74) Mandataire: WARCOIN, Jacques; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).	
(30) Données relatives à la priorité: 92/06383 25 mai 1992 (25.05.92) 93/04117 7 avril 1993 (07.04.93)		FR FR	(81) Etats désignés: CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 15, quai Anatole-France, F-75007 Pa- ris (FR).		Publiée Avec rapport de recherche internationale.	
(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement) : GOSSELIN, Gilles [FR/FR]; Résidence "Parc-des-Arceaux", Bât. F1, Rue Paul-Rimbaud, F-34000 Montpellier (FR). IMBACH, Jean-Louis [FR/FR]; Laboratoire de Chimie Bio Organ- ique USTL, Place Eugène Bataillon, F-34095 Montpellier (FR).			

(54) Title: PHOSPHOTRIESTER-TYPE BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

(54) Titre: COMPOSES BIOLOGIQUEMENT ACTIFS DE TYPE PHOSPHOTRIESTERS



(57) Abstract

Phosphotriester compound of general formula (I); wherein R is a radical - (CH₂)_n - S - X in which X is a radical (a) or -S-U, Z being O or S, and Y and U denote an alkyl, aryl or osidic radical, optionally substituted in particular by an OH, SH or NH₂ group, and n is from 1 to 4, preferably 1 or 2, and Nu is a radical consisting of a biologically active compound residue or the dephosphorylated residue of a compound that is biologically active when it carries a phosphate or phosphonate group.

(57) Abrégé

La présente invention a pour objet un composé phosphotriester répondant à la formule générale (I) dans laquelle: R est un radical - (CH₂)_n - S - X où X représente un radical (a) ou -S-U, Z étant O ou S et, Y et U représentant un radical alkyle, aryle ou osidique, éventuellement substitué notamment par un groupe OH, SH ou NH₂ et, n est égal à 1 à 4 de préférence 1 ou 2 et, Nu est un radical consistant en un reste d'un composé biologiquement actif ou le reste déphosphorylé d'un composé qui est biologiquement actif lorsqu'il porte un groupe phosphate ou phosphonate.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

**Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures
publiant des demandes internationales en vertu du PCT.**

AT	Autriche	PR	France	MR	Mauritanie
AU	Australie	GA	Géhon	MW	Malawi
BB	Barbade	GB	Royaume-Uni	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	GN	Guinée	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	CR	Grèce	NZ	Nouvelle-Zélande
BC	Bulgarie	HU	Hongrie	PL	Pologne
BJ	Bénin	IE	Irlande	PT	Portugal
BR	Brésil	IT	Italie	RO	Roumanie
CA	Canada	JP	Japon	RU	Fédération de Russie
CF	République Centrafricaine	KP	République populaire démocratique du Corée	SD	Soudan
CC	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SK	République slovaque
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SN	Sénégal
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SU	Union soviétique
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TG	Togo
DE	Allemagne	MG	Madagascar	UA	Ukraine
DK	Danemark	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
ES	Espagne	MN	Mongolie	VN	Viet Nam

COMPOSÉS BIOLOGIQUEMENT ACTIFS¹ DE TYPE PHOSPHOTRIESTERS

La présente invention concerne la fonctionnalisation bioréversible de groupes phosphates ou phosphonates de composés biologiquement actifs.

Plus particulièrement la présente invention concerne des composés biologiquement actifs du type phosphotriesters portant des groupes phosphates ou phosphonates protégés par des groupes protecteurs bioréversibles en milieu intracellulaire.

Les composés portant un groupe phosphate ou phosphonate ont une nature ionique chargée négativement et un pH physiologique. L'activité thérapeutique de tels composés est limitée de ce fait par la faible diffusion à travers les membranes biologiques lipidiques de composés négativement chargés. D'autre part, les composés portant des groupes phosphates sont sujets à une déphosphorylation aisée par l'action des enzymes phosphatases dans le sang ou sur les membranes cellulaires qui déphosphorylent les composés substrats. En général, les composés phosphates ou phosphonates chargés sont mal absorbés par administration orale et ne diffusent pas efficacement à travers les membranes cellulaires ou même la barrière cérébrale de nature lipidique.

Certains composés tels que les dérivés ou analogues de nucléosides sont actifs administrés sous forme non phosphorylée, mais sont phosphorylés *in vivo* sous forme de métabolique monophosphate ou triphosphate pour être actifs.

Ainsi les dérivés de nucléosides à activité antitumorale, tels que la 5-fluoro-uridine, la 5-fluoro-2'-désoxyuridine ou la 1-β-D-arabinofuranosylcytosine exercent leur activité sous forme phosphorylée.

De même, pour exercer leur activité antiproliférative, certains analogues de nucléosides ou de phosphononucléosides se doivent d'être phosphorylés par des enzymes cellulaires -ou virales- en leur triphosphate correspondant ; celui-ci étant ensuite susceptible d'inhiber les polymérases virales et/ou cellulaires.

Parmi les différentes classes structurales d'agents antiviraux, les 2',3' -didésoxynucléosides sont des composés qui présentent une des meilleure efficacité lors du traitement du SIDA. Mais ces analogues de nucléoside doivent subir une biotransformation par des kinases cellulaires

pour exercer leur activité sur la réplication du VIH, l'agent étiologique du SIDA. Cette métabolisation se fait par passage par le didéoxynucléoside 5'-monophosphate puis le 5'-diphosphate pour conduire au 5'-triphosphate qui est un inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH et qui interfère 5 ainsi avec la biosynthèse de l'ADN viral.

Malgré leur grande potentialité thérapeutique, les 2',3'-didéoxynucléosides souffrent de limitations notamment la faible capacité de certains d'entre eux à être métabolisés par les kinases en triphosphate. La 2',3'-didésoxyuridine 5'-triphosphate par exemple, est un excellent 10 inhibiteur de la transcriptase inverse (Z. Hao et coll., *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1988, 29, 348, E. Matthes et coll., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 148, 78-85). Par contre son nucléoside est inapte à inhiber la réplication du VIH *in vitro*. Des études ont montré que ce résultat est lié 15 à la faible capacité du nucléoside à être métabolisé en son monophosphate par les kinases cellulaires (Z. Hao et coll. *Mol. Pharmacol.* 1990, 37, 157-153).

Ainsi, l'AZT est successivement métabolisée en son triphosphate (AZTP) qui est un puissant inhibiteur de la reverse transcriptase du VIH. De même, l'Acyclovir (ACV) est transformé en son triphosphate (ACVTP) 20 qui inhibe sélectivement la DNA polymérase du virus de l'herpès. La première étape de l'activation des nucléosides (Nu) consiste en une monophosphorylation conduisant au monophosphate correspondant (NuMP). C'est cette première étape qui est la plus sélective.

Dans le but de passer outre cette étape clé de monophosphorylation 25 enzymatique, on a déjà proposé d'administrer directement des NuMP, mais leur utilisation à des fins thérapeutiques s'est heurtée aux limitations et inconvénients mentionnés ci-après.

Les composés portant un groupe phosphate ou phosphonate ont une 30 nature ionique chargée négativement à un pH physiologique. L'activité thérapeutique de tels composés est de ce fait limitée compte-tenu de la faible diffusion à travers les membranes biologiques lipidiques de composés négativement chargés. En particulier les composés chargés ne diffusent pas efficacement à travers les membranes cellulaires ni même à

travers la barrière cérébrale de nature lipidique. D'autre part de tels composés sont sujets à une déphosphorylation aisée par l'action des enzymes phosphatases dans le sang ou sur les membranes cellulaires qui déphosphorylent les composés substrats de ces enzymes. En général les 5 composés phosphates ou phosphonates chargés sont mal absorbés par administration orale.

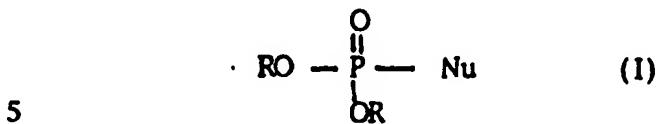
On a cherché à transformer des mononucléotides en des phosphotriesters neutres susceptibles de traverser la membrane cellulaire et de délivrer intracellulairement le phosphotriester mononucléotidique 10 (NuMP) correspondant. Un tel concept a été abordé par divers auteurs depuis de nombreuses années, mais s'est avéré décevant. Les dérivés obtenus présentaient en général soit une toxicité trop importante soit une stabilité extracellulaire insuffisante et n'apportaient finalement aucune amélioration au plan de l'activité biologique.

15 Ainsi l'utilisation de structures nucléosidiques phosphorylées comprenant des groupements protecteurs bioréversibles de type acyloxyméthyle ou acyloxybenzyle a été proposée pour des dérivés nucléosides anti-tumoraux tels ceux de la 5-fluorouracile dans les brevets WO n° 9008155 et WO 9119721. Toutefois ces composés ont une stabilité 20 chimique limitée, et génèrent *in vivo* des métabolites formaldéhydes toxiques. Ils sont en outre peu solubles et leur rendement de préparation chimique est faible.

Le but de la présente invention est donc de fournir d'autres types de 25 groupements bioréversibles pouvant être associés notamment à des structures mononucléotidiques ou autres de sorte que leur activité biologique s'en trouve augmentée, en particulier en ce qui concerne les composés dérivés ou analogues de nucléosides à activité anti-virale, et ne présentant pas les inconvénients précités.

La présente invention propose d'utiliser de nouveaux groupements 30 caractérisés par la présence de liaisons enzymo-labiles $-S-S-$ et/ou $-S-C=Z$ qui conduisent après activation enzymatique à la formation d'intermédiaires instables libérant sélectivement le monophosphate ou monophosphonate correspondant.

La présente invention a plus précisément pour objet le composé répondant à la formule générale I :



dans laquelle :

- R est un radical $-(CH_2)_n-S-X$
- où : - X représente un radical $-C\begin{smallmatrix} Y \\ \parallel \\ Z \end{smallmatrix}-$ ou $-S-U$,
- Z étant O ou S,
- Y et U représentant un radical alkyle, aryle ou osidique, éventuellement substitué notamment par un groupe OH, SH ou NH et,
- n est égal à 1 à 4 de préférence 1 ou 2 et,
- Nu est un radical consistant en un reste de composé biologiquement actif ou le reste déphosphorylé d'un composé qui est biologiquement actif lorsqu'il porte un groupe phosphate ou phosphonate.

Lorsque dans la formule (I) Nu est lié au phosphore par une liaison P-O, le composé de formule (I) selon l'invention porte un groupe phosphate et constitue donc un composé phosphotriester.

20 Lorsque Nu est lié au phosphore par une liaison P-C, le composé de formule (I) selon l'invention porte un groupe phosphonate.

Les mécanismes de bioréversibilité des radicaux R se font par une coupure enzymatique des liaisons S-X et une libération des restes $(CH_2)_n-S$ selon un mécanisme illustré par les exemples représentés figure 1.

25 On cite en particulier pour Y et U comme groupement alkyle, un alkyle en C_1 à C_7 ; comme groupement aryle, les radicaux phényle et benzyle et, comme radicaux osidiques, le glucose, le mannose ou le rhamnose.

Dans un mode de réalisation, lorsque X représente SU de préférence U représente le radical $-(CH_2)_n - X_1$ où X_1 représente H, OH, SH, ou NH₂ et n^1 est égal à 1 à 4, de préférence 1 ou 2.

On cite en particulier les composés (I) dans lesquels R représente $-(CH_2)_2-S-S-(CH_2)_2-OH$.

Dans un autre mode de réalisation lorsque X représente $-C\overset{||}{-}Y$, de façon appropriée Y représente CH_3 ou tBu .

On cite en particulier les composés (I) pour lesquels R représente $-(CH_2)_n-S-C\overset{||}{-}CH_3$ ou $(CH_2)_n-S-C\overset{||}{-}tBu$ avec $n = 1$ ou 2 .

5



Dans un mode de réalisation avantageux de la présente invention des composés (I), on cite en particulier les composés pour lesquels Nu représente un reste en 5' de nucléoside naturel ou de dérivé de nucléoside naturel thérapeutiquement actif ou dont le dérivé 5'-(O)-monophosphate ou 5'-(C)-monophosphonate est thérapeutiquement actif.

10 Ces composés de formule (I) ont en général une activité anti-virale ou anti-tumorale.

15 On cite plus particulièrement les composés de formule (I) pour lesquels Nu représente un reste en 5' de 2',3'- didéoxynucléoside ou 2',3'- didéhydronucléoside.

20 Parmi les composés (I) dérivés de didéoxynucléosides à activité antivirale on cite plus particulièrement les composés (I) pour lesquels Nu est un reste en 5' de la ddU (didéoxyuridine), la ddT (didéoxythymidine), la ddC (didéoxycytidine), l'AZT (3'-azido, 2',3'-didéoxythymidine) ainsi que leurs dérivés substitués notamment sur la base pyrimidique ou en 2' et 3' du cycle osidique.

25 La ddT, la ddC ou l'AZT illustrent les radicaux Nu qui représentent un reste en 5' de dérivé de nucléoside naturel thérapeutiquement actif.

30 La ddU illustre les radicaux Nu qui représentent un reste en 5' d'un dérivé de nucléoside qui n'est actif que sous forme phosphorylée. La ddU (didéoxyuridine) n'est pas monophosphorylée enzymatiquement *in vivo*. Seul son triphosphate est un inhibiteur de polymérase et lui confère une activité anti-virale.

35 Parmi les composés (I) à activité anti-tumorale on cite en particulier les composés pour lesquels Nu représente un reste en 5' des dérivés 5-fluoro-uridine ou 5-fluoro-2'-désoxyuridine ou 1- β -D-arabinofuranosylcytosine. Ces composés illustrent l'intérêt de la fonctionnalisation selon l'invention pour contourner la résistance acquise à certaines drogues nucléosidiques lorsque cette résistance est due à une perte de leur aptitude à être monophosphorylé comme c'est souvent le cas en chimiothérapie anti-tumorale.

Selon une autre variante de réalisation de l'invention dans les composés (I) le radical Nu représente un reste d'analogue de nucléoside tel qu'un carbonucléoside (nucléoside dont l'oxygène du cycle osidique est remplacé par un carbone), un phosphononucléoside (nucléoside dont l'oxygène en 5' est remplacé par un carbone) ou un dérivé de base purine ou pyrimidine du type acyclonucléoside c'est à dire ne comportant pas de cycle osidique tel que l'ACV (aciclovir) ou un radical méthoxyalkyl-purine ou- pyrimidine de formule $\text{CH}_2\text{-O-alkyl-purine ou- pyrimidine}$.

Les composés (I) pour lesquels Nu représente un radical méthoxyalkyl-purine ou- pyrimidine illustrent les composés phosphonates. Il s'agit en l'espèce de composés anti-viraux phosphonyl-méthoxyalkyl-purine ou- pyrimidine parmi lesquels on cite en particulier le PMEA, l'HPMPA ou l'HPMPC dont les formules sont données dans les figures 3 et 4.

La présente invention a donc en particulier pour objet des composés dans lesquels Nu est un radical 3-hydroxy-2-méthoxypropyl-purine ou- pyrimidine de formule : $-\text{CH}_2\text{-O-CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-CH}_2\text{-purine ou- pyrimidine}$ ou un radical 2-méthoxyéthyl-purine ou- pyrimidine de formule $-\text{CH}_2\text{-O-C}_2\text{H}_4\text{-purine ou- pyrimidine}$ et par exemple les composés (I) pour lesquels Nu est un radical méthoxyéthyl adénine ou 3-hydroxy-2-méthoxypropyl cytosine.

Lorsque Nu représente un reste déphosphorylé (déphosphaté ou déphosphonaté) d'une molécule qui est biologiquement active lorsqu'elle est sous forme phosphate ou phosphonate, la fonctionnalisation selon l'invention peut permettre d'une façon générale de moduler les paramètres physico-chimiques et biophysiques de ladite molécule comprenant un groupe phosphate ou phosphonate. Le composé (I) peut alors par exemple consister en un composé phosphopeptide ou phospholipide.

où Nu représente un reste de nucléoside, de dérivé ou d'analogue de nucléoside ceux ci peuvent être des énantiomères D ou L

Les composés selon l'invention peuvent être préparés par des procédés connus de l'homme de l'art.

5 En particulier la présente invention a pour objet un procédé de préparation des composés selon l'invention caractérisé en ce que l'on prépare un composé de formule (I) dans lequel les groupes fonctionnels de R, et éventuellement de Nu, sont protégés par des groupes protecteurs appropriés puis l'on déprotège lesdits groupes fonctionnels de R, et 10 éventuellement de Nu, pour obtenir les composés de formule (I).

En particulier de façon appropriée on fait réagir un composé de formule (II) :



où Nu est éventuellement protégé, avec le composé de formule (III) X-S-(CH₂)_n-OH où X est protégé pour obtenir l'édit composé de formule (I) protégé que l'on déprotège ensuite.

20 Dans un mode de réalisation particulier, la réaction entre les composés de formule (II) et (III) se fait en présence d'un agent de condensation tel que le MSNT dans la pyridine.

D'autres procédés de préparation sont illustrés dans les exemples qui suivent dans lesquels apparaîtront également d'autres caractéristiques et avantages de la présente invention.

25 La description fait référence aux figures 1 à 6, dans lesquelles :

- La figure 1 représente des mécanismes de décomposition des groupements bioréversibles sous activation enzymatique. Le même mécanisme se produit pour les deux groupes R.
- La figure 2 représente le mécanisme de décomposition du groupe bioréversible du composé de l'exemple 2.
- 5 - La figure 3 représente la formule de certains composés selon l'invention.

- La figure 4 représente un schéma de préparation de composés préparés à l'exemple 1 et la formule des composés HPMPA et HPMPC.
- La figure 5 représente les schémas de préparation de composés préparés aux exemples 2 et 3.
- 5 - La figure 6 représente le schéma de préparation de composés préparés à l'exemple 4.

L'intérêt de cette invention résidant dans la différence de stabilité des phosphotriesters mononucléotidiques entre les milieux extra- et intra-cellulaires, il est tout d'abord montré que la décomposition de l'un des composés décrits dans l'invention (exemple 2) répond bien aux critères précédemment énoncés et s'effectue selon le mécanisme présenté figure 2.

La technique HPLC "ISRP on line" ("On-line Internal Surface Reversed-Phase Cleaning : The Direct HPLC Analysis of Crude Biological Samples", A. POMPON, I. LEFEBVRE et J.L. IMBACH, Biochemical Pharmacology, 43, 1769-1775 (1992)) a été utilisé pour cette étude, le composé étudié étant respectivement incubé dans le milieu de culture (RPMI / 10% serum inactivé) et dans un extrait cellulaire total (CEM).

Le composé de l'exemple 2 présente un temps de demi-vie de 9 heures en milieu de culture et de moins de 5 minute en extrait cellulaire. 15 La libération intracellulaire de NuMP correspondant est corroborée par la mise en évidence d'une activité biologique, alors que le nucléoside constitutif est inactif.

De plus, dans la mesure où l'étape déterminant la vitesse d'activation du phosphotriester en mononucléotide est hautement 20 dépendante de la cinétique d'hydrolyse enzymatique initiale, une variation de la nature des groupements enzymo-labiles conduit à une modulation des paramètres pharmacocinétiques de la drogue et aboutit à des effets retard.

Ces données valident clairement l'intérêt de l'invention.

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur plaques de silice Merck 60F 254 (art.5554). Les chromatographies sur colonne de gel de silice ont été effectuées avec de la silice Merck 60 H (art. 7736) ou avec de la silice silarisée RP2 Merck (art. 7719).

5 Avant analyse ou lyophilisation, les solutions ont été filtrées sur filtre Millex HV-4 (Millipore).

Les spectres UV ont été enregistrés sur un spectrophotomètre UVIKON 810.

10 Les spectres de masse ont été pris sur un appareil JEOL JMS DX 300 par la méthode d'ionisation FAB en mode positif ou négatif dans une matrice de glycérol (G), glycérol/thioglycérol (GT) ou d'alcool 3-nitrobenzylique (NBA).

Les spectres RMN du proton ont été enregistrés sur un appareil Varian EM 360 ou sur appareil Brüker AC 250.

15 Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS).

La multiplicité et l'allure des signaux observés par RMN sont indiquées par une (ou plusieurs) lettre(s) : s (singulet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet), l (large).

20 Les spectres RMN du phosphore ont été enregistrés sur un appareil Brüker WP 200 SY avec découplage du proton.

Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal de H_3PO_4 pris comme référence externe.

25

Exemple 1:

O-(2',3'-didésoxyuridin-5'-yl) O,O'-bis(S-acétyl 2-thioéthyl)phosphate (1)
(Schéma en figure 4)

30

2-Hydroxyéthyl acétyl sulfide (5)

35 Une solution de 1.0 ml (14 mmol.) d'acide thioacétique dans 5 ml de toluène est traitée avec 0.90 ml (12 mmol.) d'iodoéthanol en présence de 1.7 ml (12 mmol.) de 1,8-diazabicyclo-(5.4.0) undéc-7-ène (DBU) pendant 2

heures. Le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane et lavé avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium et évaporée. Le brut obtenu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-4%) dans le dichlorométhane) pour conduire à 1.2 g (85%) de 5 sous forme d'huile.

5 : RMN¹H (DMSO-d₆) : d = 2.32 (s, 3H, CH₃); 2.91 (t, 2H, CH₂S, J = 6.6 Hz); 3.45 (pseudo q, 2H, CH₂OH, J = 6 Hz); 4.97 (t, 1H, OH) ppm.

10 O-(2',3'-didésoxyuridin-5'-yl)-hydrogénophosphonate (6)

Une solution 1,5 M d'acide phosphoreux (165 ml, 247 mmol.) dans la pyridine anhydre est ajoutée à 5.25 g de 2',3'-didésoxyuridine (24.7 mmol.) et est traitée avec 16.8 ml de chlorure de pivaloyle (136 mmol.).

15 Après 3 heures de réaction, une solution aqueuse 1 M de bicarbonate de triéthylammonium est ajoutée jusqu'à neutralisation et le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est chromatographiée sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-35%) dans le dichlorométhane) pour conduire à 6. Le produit est repris dans du méthanol et est filtré sur filtre Millipore. L'évaporation du solvant donne 7.10 g (76%) de 6 (forme triéthylammonium) suffisamment pur pour la suite de la synthèse. Un échantillon de plus grande pureté est obtenu après une purification supplémentaire par chromatographie sur couche mince de gel de silice utilisant un mélange d'isopropanol, ammoniaque, eau (8:1:1) comme éluant. Le produit sous forme ammonium est extrait de la silice avec du méthanol, le solvant est chassé par évaporation et le résidu est repris à l'eau, filtré sur filtre Millipore et lyophilisé.

6: UV (H₂O) : l_{max} = 262 nm (e 9940); l_{min} = 230 nm (e 2080)

30 SM (FAB négatif, GT) : 275 (M)⁺

RMN¹H (DMSO-d₆) : d = 1.78-2.05 (m, 3H, H-2',3',3''); 2.18-2.45 (m, 1H, H-2''); 3.65-3.95 (m, 2H, H-5',5''); 4.11 (m, 1H, H-4'); 5.55 (d, 1H, H-5, J = 8.1 Hz); 5.95 (dd, 1H, H-1', J = 6.8 et 3.8 Hz); 6.63 (d, 1H, HP, J = 592 Hz); 7.87 (d, 1H, H-6, J = 8.1 Hz) ppm

35 RMN³¹P (DMSO-d₆) : d = 1.60 ppm.

O-(2',3'-didésoxyuridin-5'-yl) O,O'-bis(S-acétyl 2-thioéthyl) phosphate (1)

Une solution de 200 mg (0,530 mmol.) de l'hydrogénophosphonate 6 de la 2',3'-didésoxyuridine dans 5 ml de pyridine est traitée avec 196 μ l de chlorure de pivaloyle pendant 30 minutes. 159 mg (1,33 mmol.) de 2-hydroxyéthyl acétyl sulfide (5) sont ajoutés et la réaction est laissée 2 heures sous agitation. Le phosphite formé est oxydé à l'aide d'une solution d'iode à 2% dans un mélange pyridine-eau (98:2) jusqu'à coloration persistante (7-8 ml). Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le brut obtenu est coévaporé avec du toluène et chromatographié sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-6%) dans le dichlorométhane) pour conduire à 65 mg (25%) du composé 1 sous forme d'huile.

15 **1:** UV (EtOH) : $\lambda_{\text{max}} = 262 \text{ nm} (\epsilon 9400)$; $\lambda_{\text{min}} = 230 \text{ nm} (\epsilon 2500)$

SM (FAB positif) : 497 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

RMN¹H (DMSO-*d*6) : $\delta = 1.73$ -2.13 (m, 3H, H-2',3',3''); 2.20-2.4 (m, 1H, H-2''); 2.356 et 2.360 (s et s, 3H et 3H, 2 CH₃); 3.13 (t, 4H, 2 CH₂S, $J = 6.4$ Hz); 4.00-4.26 (m, 7H, H-4', 5',5'' et 2 CH₂CH₂OP); 5.60 (d, 1H, H-5, $J = 8.1$ Hz); 6.01 (dd, 1H, H-1', $J = 4.2$ et 7,0 Hz); 7.64 (d, 1H, H-6, $J = 8.1$ Hz); 11.3 (s, 1H, NHCO) ppm.

RMN³¹P (DMSO-*d*6) : $\delta = -1.21$ ppm.

25 **Exemple 2:**

O,O'-Bis (S-(2-hydroxyéthylsulfidyl) 2-thioéthyl) O-(2',3'-didésoxyuridin-5'-yl) phosphate (2).

(Schéma en figure 5)

30

O,O'-Bis (S-(O-(4-méthoxytrityl) 2-oxéthylsulfidyl) 2-thioéthyl) phosphate (8).

35 A une solution de 0,910 g (13,4 mmoles) d'imidazole dans 18 ml de pyridine à 0°C sont ajoutés 0,406 ml (4,45 mmoles) d'oxychlorure de phosphore. Le mélange est agité 30 minutes à température ambiante puis

ajouté à 3.80 g (8.91 mmoles) de mono-O (4-méthoxytrityl) dithiodiéthanol (7). Après 18 heures, le mélange réactionnel est traité avec une solution 1 M d'acétate de triéthylammonium. Les produits de la réaction sont extrait avec du dichlorométhane et la phase organique est lavée avec de l'eau. séchée sur sulfate de sodium, concentrée sous pression réduite et coévaporée avec du toluène. Une purification sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-10%) dans le dichlorométhane) conduit à 2.2 g (48%) de **8** sous forme de sel de triéthylammonium.

10 **8** : SM (FAB négatif, NBA) : 913 (M⁺).
 RMN¹H (DMSO-d6) : 1.14 (t, 9H, (CH₃CH₂)₃NH⁺, J = 7.3 Hz); 2.78 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OP, J = 6.4 Hz). 2.86 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OMTr, J = 6 Hz); 2.99 (q, 6H, (CH₃CH₂)₃NH⁺, J = 7.3 Hz); 3.21 (t, 4H, 2 CH₂OMTr, J = 5.9 Hz); 3.71 (s, 6H, 2 CH₃O); 3.87 (m, 4H, 2 CH₂OP); 6.82-7.45 (m, 28H, 2 Tr)
 15 ppm.
 RMN³¹P (DMSO-d6) : - 2.70 ppm.

20 **O,O'-Bis (S-(2-hydroxyéthylsulfidyl) 2-thioéthyl) O-(2',3'-didésoxyuridin-5'-yl) phosphate (2).**

Un mélange de 666 mg (0.655 mmoles) de **8** et de 139 mg (0.656 mmoles) de 2',3'-didésoxyuridine dans 5 ml de pyridine est traité avec 486 mg (1.64 mmoles) de 1-(2-mésitylénesulfonyl) 3-nitro 1,2,4-triazole. Après 25 30 heures, le mélange réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, lavé avec une solution aqueuse 1M d'acétate de triéthylammonium, puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, concentrée sous pression réduite, coévaporée avec du toluène et chromatographiée sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-4%) dans le dichlorométhane). Le phosphotriester protégé partiellement purifié est traité avec 5 ml du mélange acide acétique/eau/méthanol (8:1:1) pendant 30 24 heures. Les solvants sont chassés par évaporation sous pression réduite et l'huile obtenue est coévaporée avec du toluène. Une purification sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-6%) dans le dichlorométhane) suivie d'une purification sur colonne de silice silanisée (éluant : éthanol (0-40%) dans l'eau) conduit à 52 mg (14%) du composé **2** 35 après lyophilisation dans le dioxane.

2 : UV (EtOH) : λ max 261 nm (ϵ 9900)

λ min 231 nm (ϵ 3100).

SM (FAB positif. GT) : 565 (M+H)⁺; 489 (M-SCH₂CH₂OH+2H)⁺; 429 (M-HOCH₂CH₂SSCH₂CH₂+2H)⁺.

RMN¹H (DMSO-d6) : 1.63-1.9 (m, 1H, H-3'); 1.9-2.10 (m, 2H, H-2',3''); 2.33-2.40 (m, 1H, H-2''); 2.80 (t, 2H, HOCH₂CH₂S, J = 6.4 Hz); 2.81 (t, 2H, HOCH₂CH₂S, J = 6.4 Hz); 3.00 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OP, J = 6.3 Hz); 3.61 (pseudo q, 4H, 2 HOCH₂, J = 6 Hz); 4.07-4.32 (m, 7H, H-4',5',5'' et 2 CH₂CH₂OP); 4.89 (t, 2H, 2 HO, J = 4.9 Hz); 5.598 (d, 1H, H-5, J = 8.1 Hz); 5.604 (d, 1H, H-5, J = 8.1 Hz); 6.00 (dd, 2H, 2 H-1', J = 4.1 et 7.9 Hz); 7.65 (d, 2H, 2 H-6, J = 8.0 Hz); 11.31 (sl, 1 H, NHCO) ppm.

RMN³¹P (DMSO-d6) : - 0.880 ppm.

15

Exemple 3:

O,O'-Bi' (S-(2-hydroxyéthylsulfidyl) 2-thioéthyl) O-(3'-azido 3'-désoxythymidin-5'-yl) phosphate (3).

20 (Schéma en figure 5)

Un mélange de 666 mg (0.655 mmoles) de 8 et de 193 mg (0.722 mmoles) de 3'-azido 3'-désoxythymidine dans 5 ml de pyridine est traité avec 486 mg (1.64 mmoles) de 1-(2-mésitylénesulfonyl) 3-nitro 1,2,4-triazole. Après 24 heures, 194 mg (0.656 mmoles) de 1-(2-mésitylénesulfonyl) 3-nitro 1,2,4 triazole sont rajoutés et la réaction est laissée 24 heures supplémentaires. Le mélange réactionnel est alors dilué avec du dichlorométhane, lavé avec une solution aqueuse 1M d'acétate de triéthylammonium, puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, concentrée sous pression réduite, coévaporée avec du toluène et chromatographiée sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-2%) dans le dichlorométhane). Le phosphotriester protégé partiellement purifié est traité avec 5 ml du mélange acide acétique/eau/méthanol (8:1:1) pendant 24 heures. Les solvants sont chassés par évaporation sous pression réduite et l'huile obtenue est coévaporée avec du toluène. Une purification sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-6%) dans le

dichlorométhane) conduit à 130 mg (29%) du composé **3** après lyophilisation dans le dioxane.

3 : UV (EtOH) : λ max 264 nm (ϵ 9600)

λ min 234 nm (ϵ 2100).

SM (FAB positif, GT) : 620 ($M+H$)⁺; 544 ($M-SCH_2CH_2OH+2H$)⁺.

RMN¹H (DMSO-d6) : 1.80 (s, 3H, CH₃); 2.26-2.5 (m, 2H, H-2',2''); 2.796 (t, 2H, HOCH₂CH₂S, J = 6.4 Hz); 2.802 (t, 2H, HOCH₂CH₂S, J = 6.4 Hz); 2.99 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OP, J = 6.3 Hz); 3.61 (pseudo q, 4H, 2 HOCH₂, J = 6 Hz); 4.02 (m, 1H, H-4'); 4.09-4.44 (m, 6H, H-5',5'' et 2 CH₂CH₂OP); 4.48 (m, 1H, H-3'); 4.90 (t, 2H, 2 HO, J = 5.3 Hz); 6.14 (t, 1H, H-1', J = 6.6 Hz); 7.49 (s, 1H, H-6); 11.37 (sl, 1H, NHCO) ppm.

RMN³¹P (DMSO-d6) : - 0.954 ppm.

15

Exemple 4:

9-(2-(O,O'-Bis(S-(2-hydroxyéthylsulfidyl)-2-thioéthyl)phosphonylméthoxy-éthyl)adénine (4).

20 (Schéma en figure 5)

N⁶-(4-Méthoxytrityl)9-(2-diéthoxyphosphonylméthoxyéthyl)adénine (10).

25 Une solution de 3.93 g (11.9 mmoles) de 9-(diéthoxyphosphonylméthoxyéthyl) adénine (**9**) (A. Holy et coll., Collection Czechoslovak Chem. Commun. **52**, 2792, 1987) et de 146 mg (1.19 mmoles) de 4-diméthylaminopyridine dans 50 ml de dichlorométhane est traitée avec 3.31 ml (23.8 mmoles) de triéthylamine et 7.35 g (23.8 mmoles) de chlorure de 4-méthoxytrityle pendant 4 heures. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec du dichlorométhane et lavé avec une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium et concentrée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-3%) dans dichlorométhane) permet d'isoler 5.43 g (84%) du composé **10**.

10 : UV (EtOH) : λ max 275 nm (ϵ 27200)

λ min 246 nm (ϵ 11200).

SM (FAB négatif, GT) : 601 (M-H) $^-$; 406 (AMTr) $^-$; 328 (M-MTr) $^-$

RMN¹H (DMSO-d6) : 1.10 (t, 6H, 2 CH₃CH₂, J = 7.0 Hz); 3.71 (s, 3H, CH₃O), 3.80-3.98 (m, 4H, PCH₂ et CH₂CH₂); 3.88 (q, 4H, 2 CH₃CH₂, J = 8 Hz); 4.33 (t, CH₂CH₂, J = 4.8 Hz); 6.80-7.37 (m, 14H, Tr); 7.91 (s, 1H, H-8); 8.18 (s, H-2) ppm.

RMN³¹P (DMSO-d6) : 21.35 ppm.

10

N⁶-(4-Méthoxytrityl) 9-(2-phosphonylméthoxyéthyl) adénine (11).

Une solution de 5.00 g (8.31 mmoles) de **10** dans 29 ml d'acétonitrile est traitée avec 3.29 ml (24.9 mmoles) de bromure de triméthylsilyle pendant 14 heures. L'excès de réactif et le solvant sont chassés par évaporation sous pression réduite. L'huile obtenue est reprise avec du bicarbonate de triéthylammonium et concentré sous pression réduite. La purification est réalisée par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-50%) dans le dichlorométhane). Après filtration en solution dans du dichlorométhane, 3.4 g (63%) de **11** sont isolés sous forme de sel mixte d'acide et de triéthylammonium (1:1).

11 : SM (FAB négatif, GT) : 544 (M-H) $^-$; 272 (M-MTr) $^-$.

RMN¹H (DMSO-d6) : 1.11 (t, 9H, (CH₃CH₂)NH $^+$, J = 7.3 Hz); 2.96 (q, 6H, (CH₃CH₂)NH $^+$, J = 7.3 Hz); 3.34 (d, 2H, PCH₂, J = 8.4 Hz); 3.68 (s, 3H, CH₃O); 3.8 (m, 2H, CH₂CH₂); 4.27 (t, CH₂CH₂, J = 4.5 Hz); 6.65-7.35 (m, 14H, Tr); 7.83 (s, 1H, H-8); 8.31 (s, 1H, H-2) ppm.

RMN³¹P (DMSO-d6) : 11.40 ppm.

30

N⁶-(4-Méthoxytrityl)9-(2-(O,O'-Bis(S-(O-(4-méthoxytrityl)2-oxéthylsulfidyl) 2-thioéthyl)) phosphonylméthoxyéthyl) adénine (12).

Un mélange de 296 mg (0.458 mmoles) de **11** avec 977 mg (2.29 mmoles) de mono-O (4-méthoxytrityl) dithiodiéthanol (**7**) dans 5 ml de pyridine est traité avec 341 mg (1.15 mmoles) de 1-(2-mésitylène sulfonyl) 3-nitro 1,2,4 triazole. Après 3 jours, le mélange réactionnel est dilué avec

du dichlorométhane, lavé avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, concentrée sous pression réduite, coévaporée avec du toluène et chromatographiée sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-5%) dans le dichlorométhane) pour donner 330 mg (53%) de **12**.

12 : UV (EtOH) : λ max 275 nm (ϵ 28200)
 λ min 253 nm (ϵ 18300).

10 SM (FAB négatif, NBA) : 1360 (M-H)⁻; 952 (M-MTrOCH₂CH₂SSCH₂CH₂)⁻.
 RMN¹H (DMSO-d₆) : 2.75 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OP, J = 6.3 Hz); 2.86 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OMTr, J = 5.9 Hz); 3.19 (t, 4H, 2 CH₂OMTr, J = 6.0 Hz); 3.68 (s, 3H, CH₃O); 3.69 (s, 6H, 2 CH₃O); 3.83 (m, 4H, PCH₂ et CH₂CH₂); 4.05 (m, 4H, 2 CH₂OP); 4.28 (t, 2H, CH₂CH₂, J = 4.6 Hz); 6.87-7.45 (m, 42H, 3 Tr); 7.88 (s, 1H, H-8); 8.12 (s, 1H, H-2) ppm.
 RMN³¹P (DMSO-d₆) : 22.09 ppm.

9-(2-(O,O'-Bis(S-(2-hydroxyéthylsulfidyl)2-thioéthyl)phosphonylméthoxy-éthyl) adénine (**4**).

20 Le phosphotriester **12** (290 mg, 0.213 mmoles) est traité avec 15 ml du mélange acide acétique/eau/méthanol (8:1:1) pendant 15 heures. Les solvants sont chassés par évaporation sous pression réduite et l'huile obtenue est coévaporée avec du toluène. Une purification sur colonne de gel de silice (éluant : méthanol (0-8%) dans le dichlorométhane) conduit à 116 mg (90%) du composé **4** après lyophilisation dans le mélange eau/dioxanne.

4 : UV (EtOH) : λ max 260 nm (ϵ 14700)
 λ min 228 nm (ϵ 3600).
 SM (FAB positif, GT) : 545 (M+H)⁺.
 RMN¹H (DMSO-d₆) : 2.80 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OP, J = 6.4 Hz); 2.91 (t, 4H, 2 SCH₂CH₂OH, J = 6.4 Hz); 3.61 (pseudo q, 4H, 2 CH₂OH, J = 6 Hz); 3.91 (t, 2H, CH₂CH₂, J = 5.1 Hz); 3.95 (d, 2H, PCH₂, J = 8.2 Hz); 4.15 (m, 4H, 2 CH₂OP); 4.32 (t, 2H, CH₂CH₂, J = 5.0 Hz); 7.20 (s, 2H, NH₂); 8.08 (s, 1H, H-8); 8.14 (s, 1H, H-2) ppm.
 RMN³¹P (DMSO-d₆) : 22.24 ppm.

EXEMPLE 5 :**EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-VIH 1 SUR LES CELLULES CEM
ET MT-4**

5 VIH = virus de l'immunodéficience humaine
MT-4 = cellule leucémique T humaine
CEM = cellule lymphoblastoïde T humaine

10 La réplication du VIH-1 (isolat LAI) dans les cellules CEM est mesurée par un dosage de la réverse transcriptase (RTase) dans le surnageant de culture après 5 jours d'infection. Cette activité traduit la présence du virus libéré par les cellules. Après l'adsorption du virus, les composés testés sont ajoutés à différentes concentrations dans le milieu de culture.

15 L'activité antivirale est exprimée par la concentration la plus faible de composé qui diminue la production de RTase d'au moins 50% (ED₅₀).

20 L'effet toxique sur les CEM non infectées est apprécié par une réaction colorimétrique basée sur la capacité des cellules vivantes à réduire le bromure de 3-(4,5 diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium en formazan après 5 jours d'incubation en présence de différentes concentrations des composés. Les résultats sont exprimés par la concentration la plus faible de composé qui provoque une inhibition d'au moins 50% de la formation de formazan (CD₅₀).

25 Les composés exemplifiés dans cette invention présentent les activités anti-HIV suivantes :

. Composé 1 :

ED₅₀ - CEM-TK⁻, 4.10⁻⁶ M (CD₅₀ 7.10⁻⁵ M)
CEM-SS, 5.10⁻⁶ M (CD₅₀ 9.10⁻⁵ M)
30 MT4 . 2.10⁻⁶ (CD₅₀ 9.10⁻⁵ M)

. Composé 2 :

ED₅₀ - CEM-TK⁻, 8.10⁻⁶ M (CD₅₀ 8.10⁻⁵ M)
CEM-SS, 6.10⁻⁵ M (CD₅₀ 10⁻⁴ M)

5 . Composé 3 :

ED₅₀ - CEM-TK⁻, 7.10⁻⁶ M (CD₅₀ 8.10⁻⁵ M)
CEM-SS, 7.10⁻¹⁰ M (CD₅₀ 8.10⁻⁵ M)
MT4 , 10⁻⁹ M (CD₅₀ 8.10⁻⁵ M)

10 . Composé 4 :

ED₅₀ - CEM-TK⁻, 8.10⁻⁸ M (CD₅₀ : 4.10⁻⁵ M)
CEM-SS, 3.10⁻⁶ M (CD₅₀ > 10⁻⁴ M)
MT4 , 8.10⁻⁷ M (CC₅₀ : 2.10⁻⁵ M)

15

L'ensemble de ces données confirme bien qu'il y a eu libération intracellulaire du monophosphate nucléosidique.

15

REVENDICATIONS

1. Composé phosphotriester répondant à la formule générale I :



dans laquelle :

- R est un radical $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-X}$

10

où: - X représente un radical $-\text{C}(\text{Z})\text{-Y}$ ou $-\text{S-U}$,

- Z étant O ou S,

- Y et U représentant un radical alkyle, aryle ou osidique, éventuellement substitués notamment par un groupe OH, SH ou NH₂ et,

- n est égal à 1 à 4 de préférence 1 ou 2 et,

- Nu est un radical consistant en un reste d'un composé biologiquement actif ou le reste déphosphorylé d'un composé qui est biologiquement actif lorsq'il porte un groupe phosphate ou phosphonate.

20

2. Composé selon la revendication 1 caractérisé en ce que X représente $-\text{S-U}$ et, U représente le radical $(\text{CH}_2)_{n^1}\text{-X}^1$ où X^1 représente H, OH, SH ou NH₂ et n¹ est égal à 1 à 4 de préférence 1 ou 2.

25

3. Composé selon la revendication 2 caractérisé en ce que R représente $-(\text{CH}_2)_2\text{-S-S-(CH}_2)_2\text{OH}$.

4. Composé selon la revendication 1 caractérisé en ce que X représente $-\text{C}(\text{Z})\text{-Y}$ et Y représente CH₃ ou tBu.

30

5. Composé selon la revendication 4 caractérisé en ce que R représente $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-C(=O)-CH}_3$ ou $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-C(=O)-tBu}$ avec n=1 ou 2.

6. Composé selon l'une des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que Nu représente un reste en 5' de nucléoside naturel, ou de dérivé de nucléoside naturel thérapeutiquement actif ou dont le dérivé 5'-(O) monophosphate ou 5' -(C) monophosphonate est thérapeutiquement actif.

5

7. Composé selon la revendication 6 caractérisé en ce que Nu représente un reste en 5' d'un dérivé de nucléoside naturel du type 2', 3'-didéoxynucléoside ou 2', 3'-didéhydronucléoside.

10

8. Composé selon la revendication 7 caractérisé en ce que Nu représente un reste en 5' de la ddU, ddT, ddC, de l'AZT, ou un dérivé de ces derniers substitué sur la base pyrimidique notamment en position 5 de celle-ci ou en 2' et 3' du cycle osidique.

15

9. Composé selon l'une des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que Nu représente un reste d'analogue de nucléoside tel qu'un carbonucléoside, un phosphononucléoside ou un acyclonucléoside.

20

10. Composé selon la revendication 9 caractérisé en ce que Nu est un radical du type méthoxyalkyl-purine ou- pyrimidine de formule -CH₂-O-alkyl purine ou- pyrimidine.

25

11. Composé selon la revendication 10 caractérisé en ce que Nu est un radical 3-hydroxy-2-méthoxypropyl-purine ou pyrimidine de formule -CH₂-O-CH(CH₂OH)-CH₂-purine ou- pyrimidine ou, un radical 2-méthoxyéthyl-purine ou- pyrimidine de formule -CH₂-O-C₂H₄-purine ou- pyrimidine.

30

12. Procédé de préparation d'un composé selon l'une des revendications 1 à 11 caractérisé en ce que l'on prépare un composé de formule (I) dans lequel les groupes fonctionnels de R, et éventuellement de Nu, sont protégés par des groupes protecteurs appropriés puis l'on déprotège lesdits groupes fonctionnels de R, et éventuellement de Nu, pour obtenir les composés de formule (I).

13. Procédé selon la revendication 12 caractérisé en ce que l'on fait réagir un composé de formule (II) :



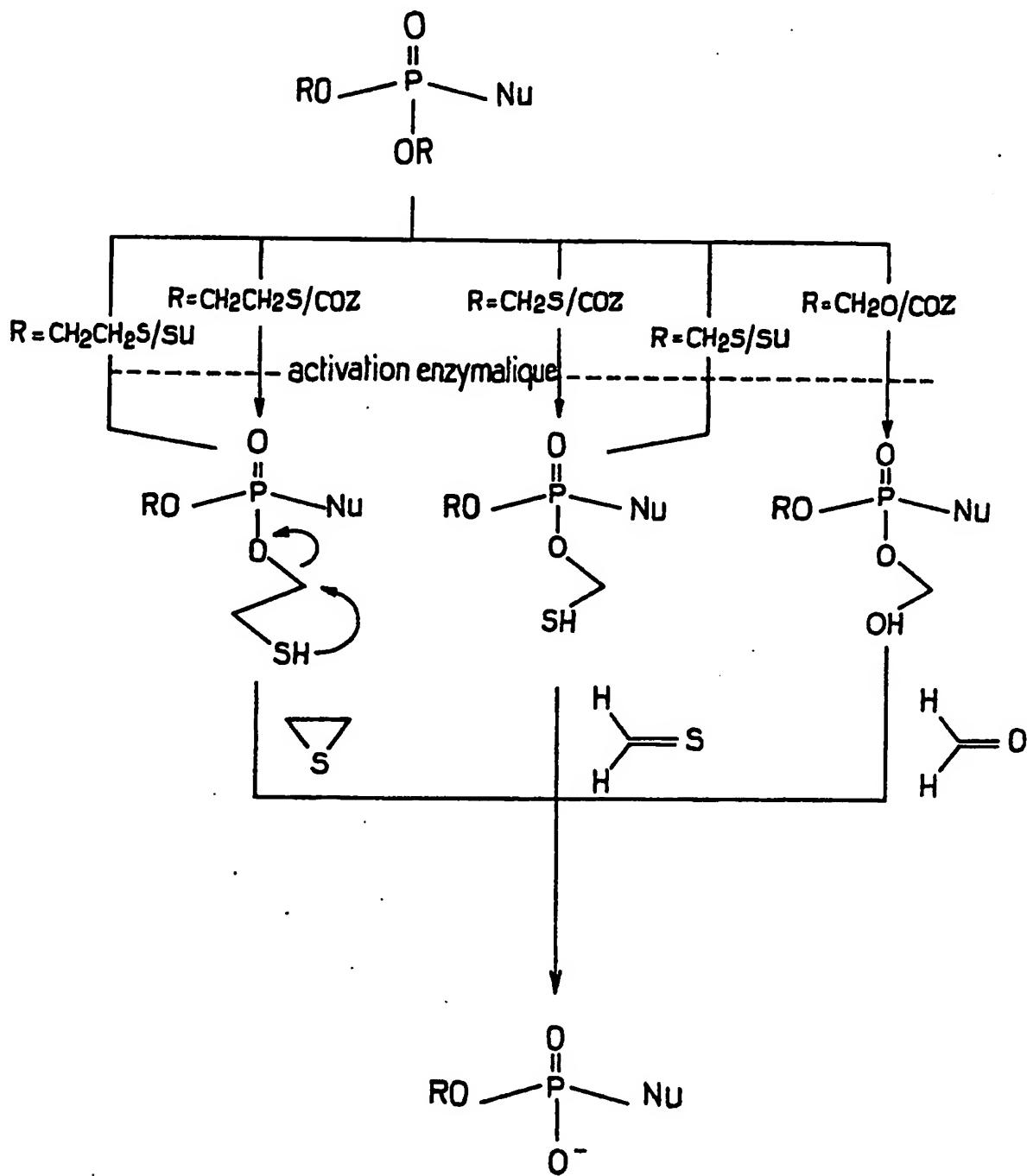
où Nu est éventuellement protégé, avec le composé de formule (III) :

$\text{X}-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ où X est protégé pour obtenir ledit composé de formule (I) protégé que l'on déprotège ensuite.

10

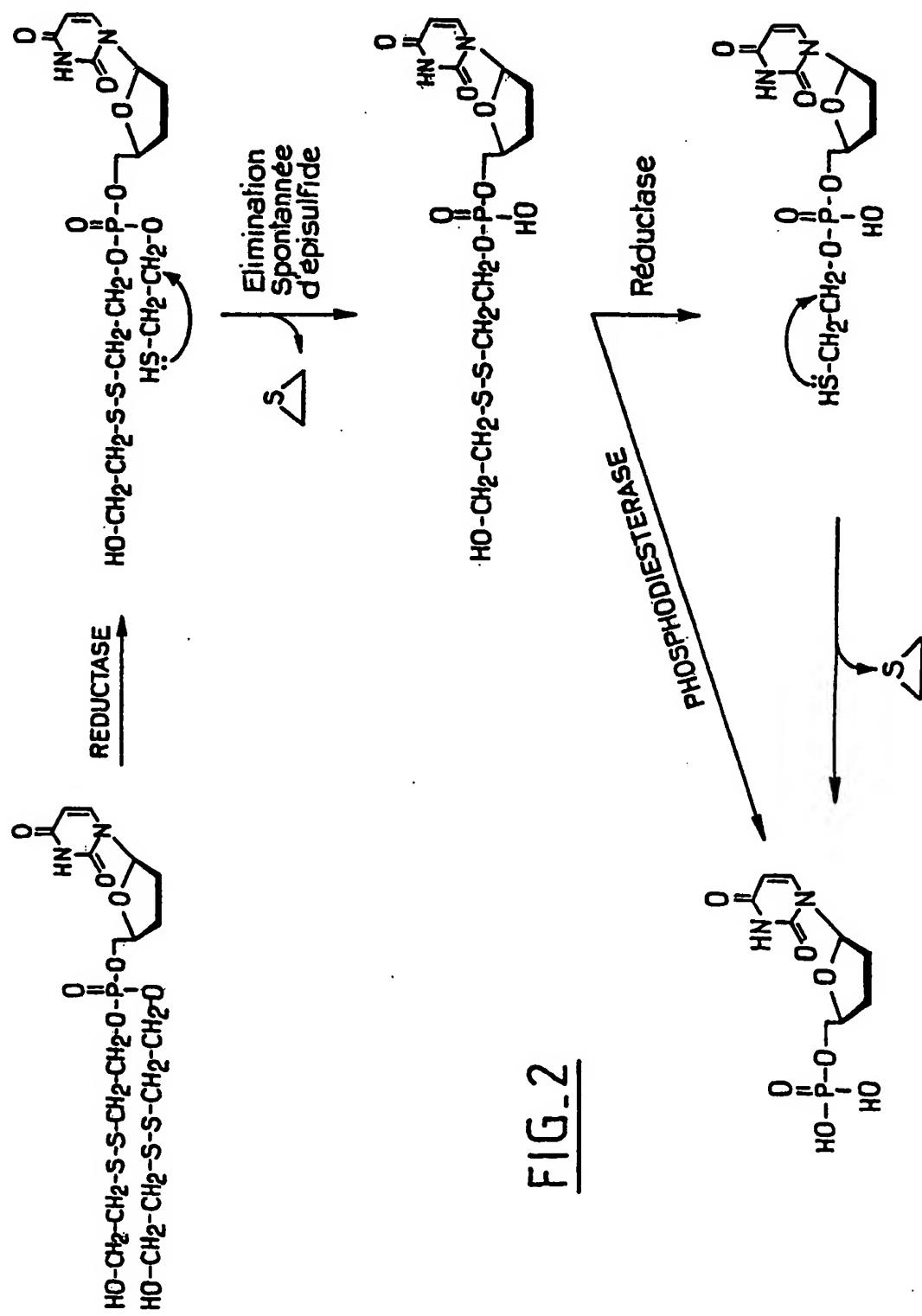
14. Procédé selon la revendication 13 caractérisé en ce que la réaction entre les composés de formules (II) et (III) se fait en présence d'un agent de condensation tel que le MSNT dans de la pyridine.

1 / 6

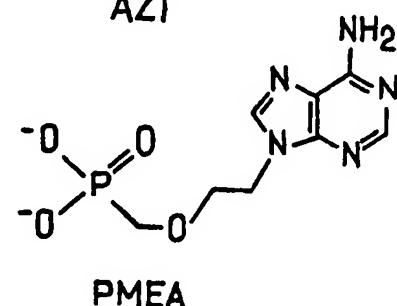
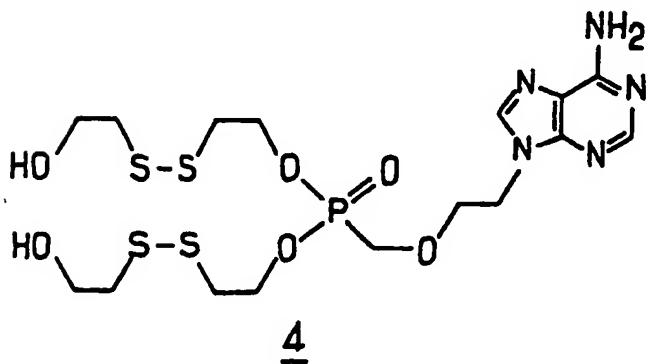
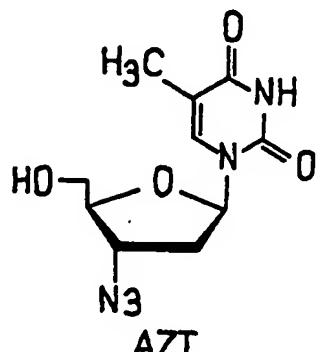
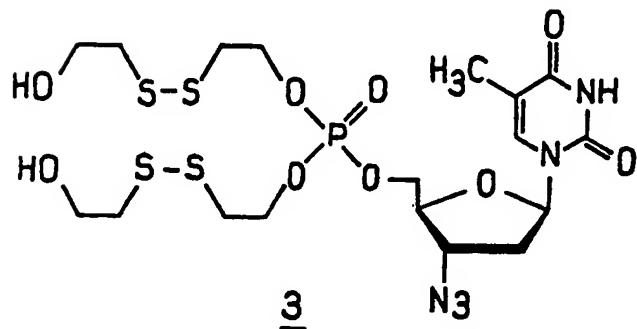
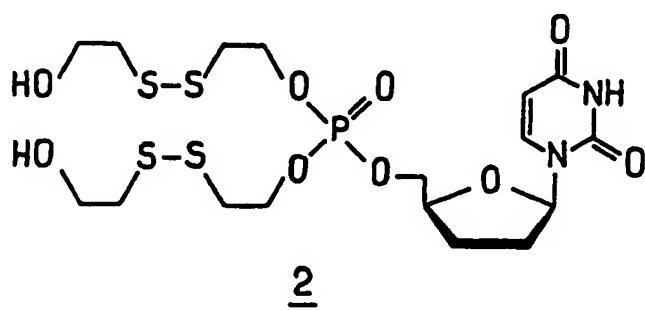
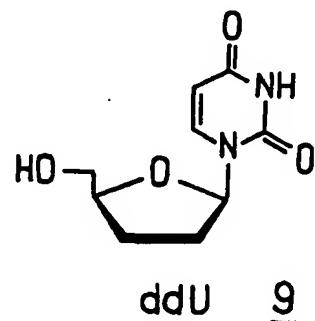
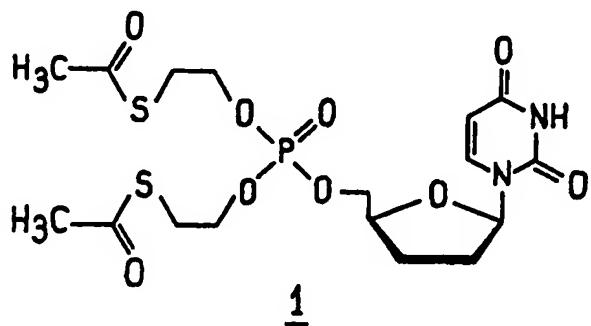


FIG_1

2 / 6

FIG. 2

3 / 6

FIG. 3

4 / 6

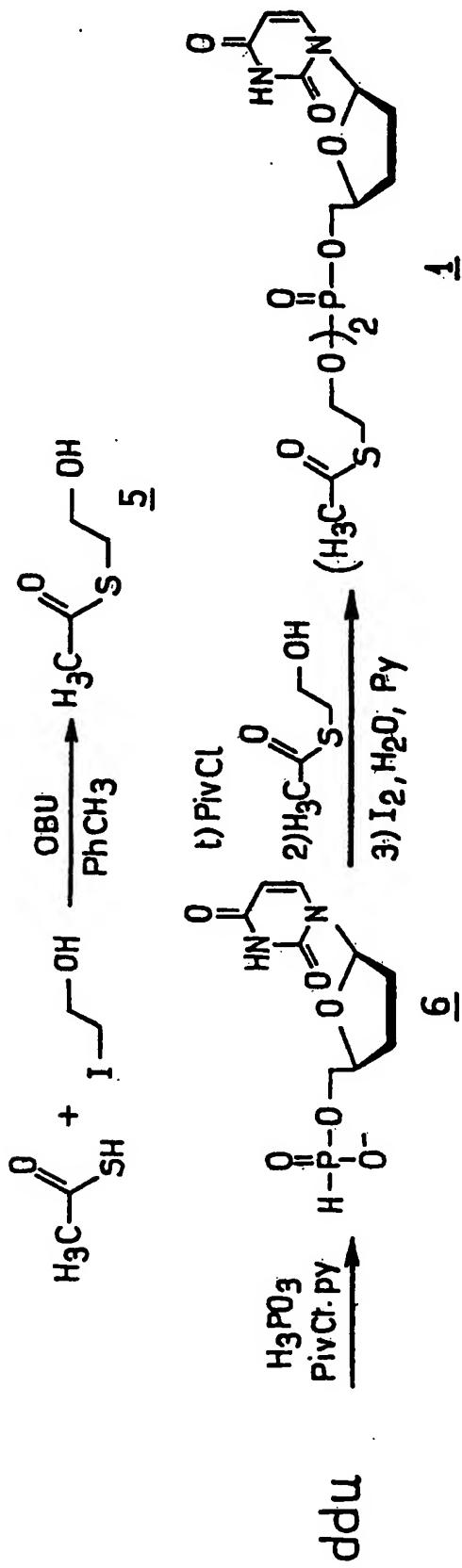


Schéma 2

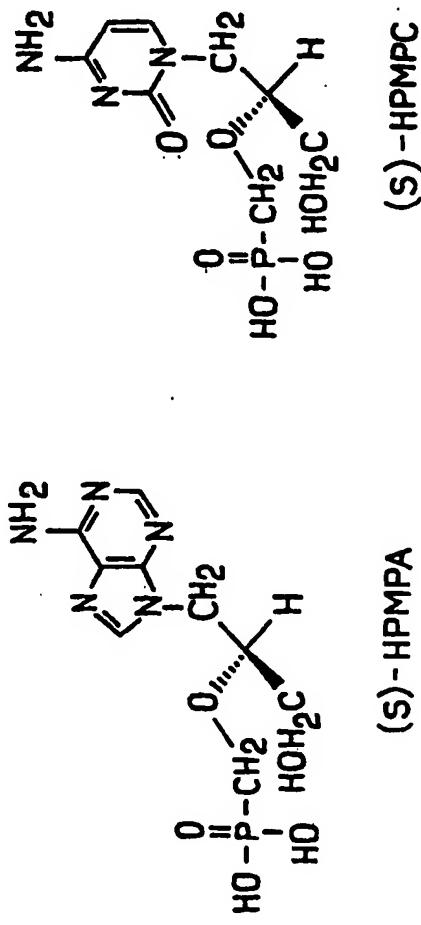
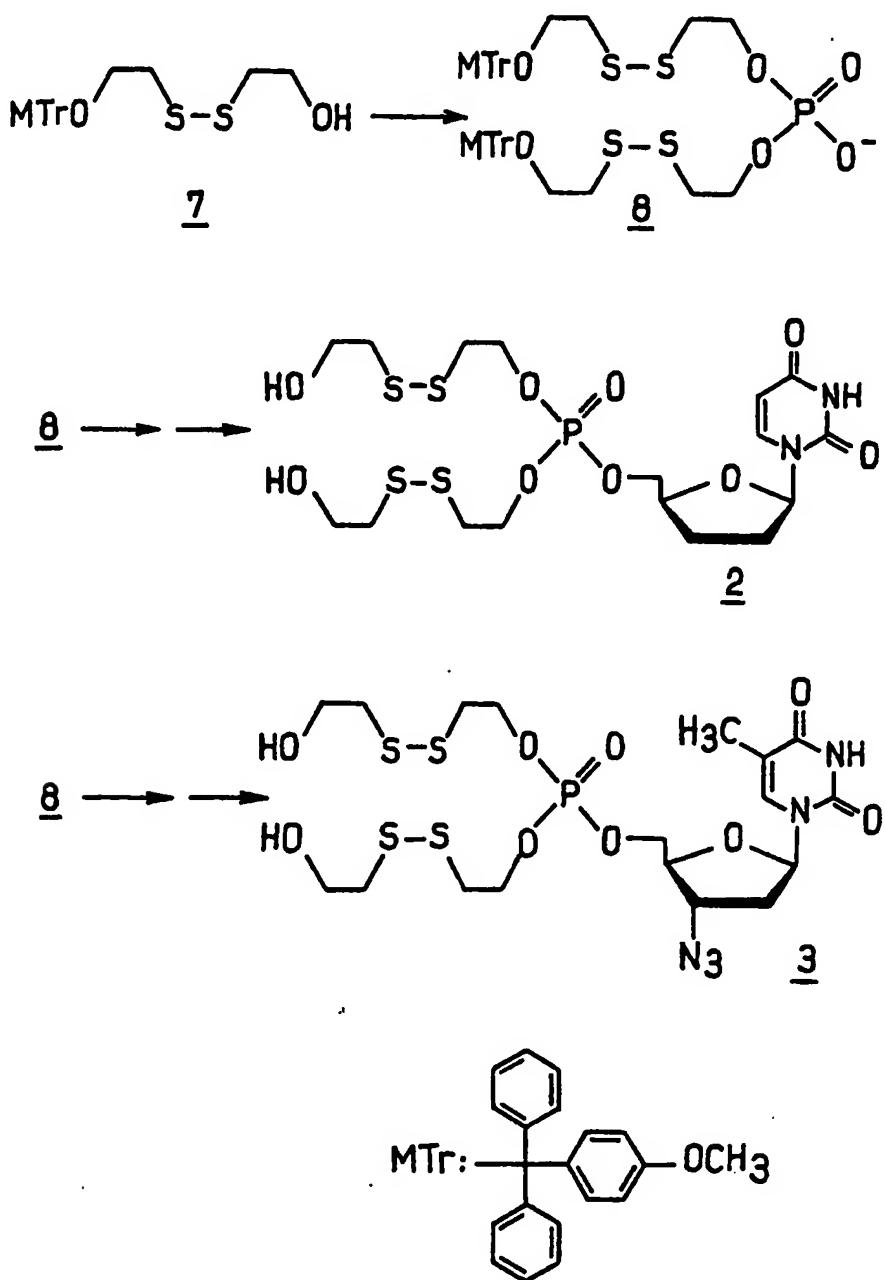
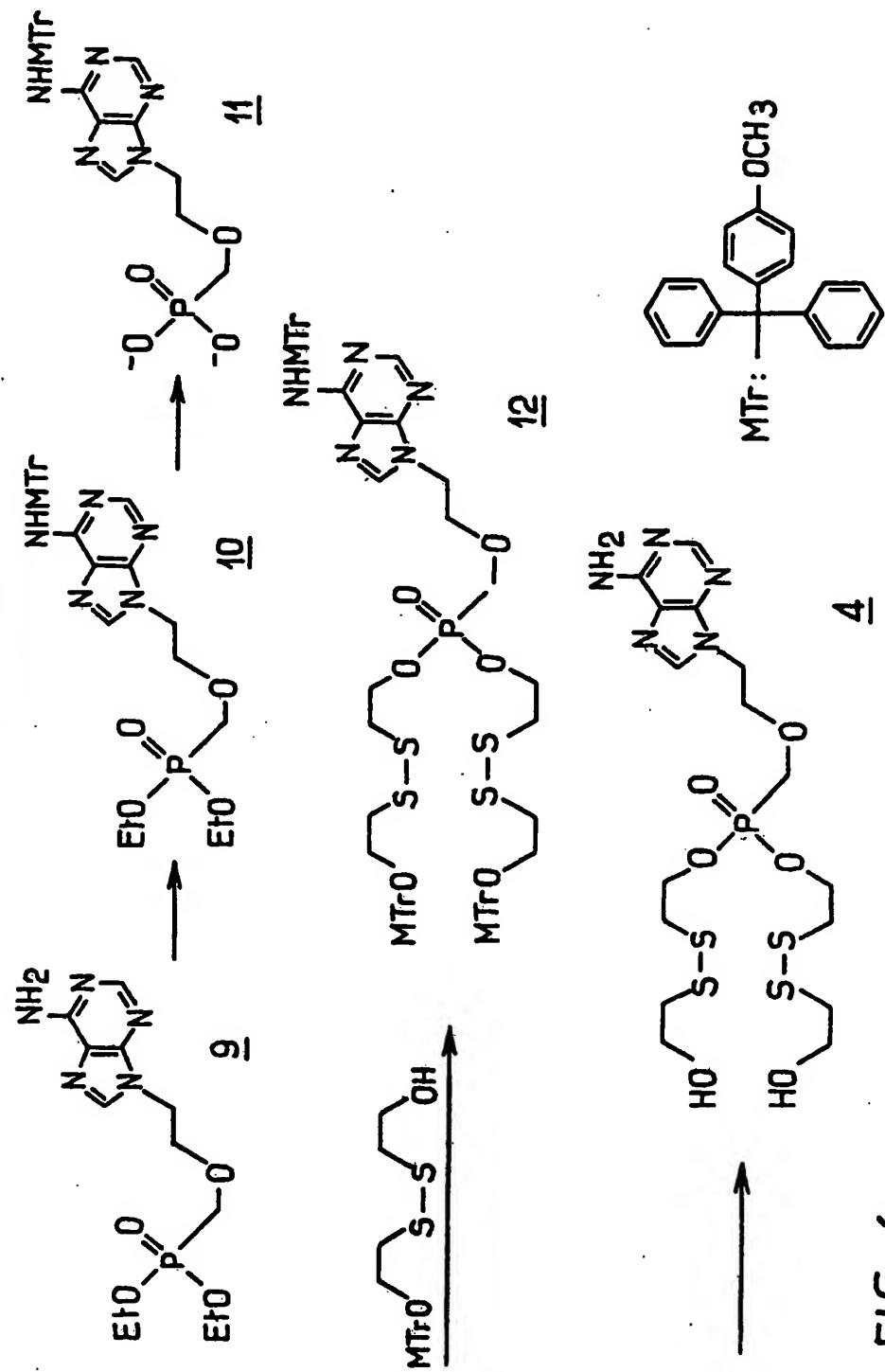


FIG. 4

5 / 6

FIG. 5

6 / 6

Schéma 3FIG. 6

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl.⁵ C07H19/10; C07H19/20; C07F9/6561; A61K31/70

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl.⁵ C07H ; C07F ; A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR,A,2 654 106 (SYNTHELABO) 10 May 1991 see abstract	1
A	WO,A,9 114 696 (GILEAD SCIENCES, INC.) 3 October 1991 see the whole document	1
A	EP,A,0 481 214 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 22 April 1992 see page 1, line 1 - page 7, line 35	1
A	EP,A,0 322 384 (MEDIVIR AKTIEBOLAG C/O STATENS) 28 June 1989 see the whole document	1
		./.

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
2 August 1993 (02.08.93)	25 August 1993 (25.08.93)
Name and mailing address of the ISA:	Authorized officer
EUROPEAN PATENT OFFICE	Telephone No.
Facsimile No	

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim N.
A	EP, A, 0 217 580 (THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED) 8 April 1987 see the whole document —	1

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 9300498
SA 74761

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 02/08/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
FR-A-2654106	10-05-91	None		
WO-A-9114696	03-10-91	AU-A- 7759291 CA-A- 2079109 EP-A- 0537299		21-10-91 30-09-91 21-04-93
EP-A-0481214	22-04-92	CA-A- 2051239 JP-A- 4230694		15-03-92 19-08-92
EP-A-0322384	28-06-89	AU-A- 2452288 JP-A- 1151595		04-05-89 14-06-89
EP-A-0217580	08-04-87	AU-B- 595832 AU-A- 6270286 CA-A- 1302263 GB-A- 2181128 AT-B- 390000 AT-B- 392794 AU-B- 572019 CA-A- 1238277 DE-A- 3608606 DE-A- 3645058 DE-A- 3645059 DE-A- 3687069 EP-A, B 0196185 EP-A, B 0291633 EP-A- 0306597 JP-A- 63290895 JP-A- 62103100 US-A- 4847244 US-A- 4818750 US-A- 4857511 US-A- 5145840 US-A- 5086044		12-04-90 19-03-87 02-06-92 15-04-87 26-02-90 10-06-91 28-04-88 21-06-88 18-09-86 02-02-89 05-01-89 10-12-92 01-10-86 23-11-88 15-03-89 28-11-88 13-05-87 11-07-89 04-04-89 15-08-89 08-09-92 04-02-92

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N°

PCT/FR 93/00498

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) :

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB
CIB 5 C07H19/10; C07H19/20; C07F9/6561; A61K31/70

II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée⁸

Système de classification	Symboles de classification		
CIB 5	C07H ; C07F ; A61K		

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté

III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS¹⁰

Catégorie ¹¹	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire ¹² des passages pertinents ¹³	No. des revendications visées ¹⁴
A	FR,A,2 654 106 (SYNTHELABO) 10 Mai 1991 voir abrégé ---	1
A	WO,A,9 114 696 (GILEAD SCIENCES, INC.) 3 Octobre 1991 voir le document en entier ---	1
A	EP,A,0 481 214 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 22 Avril 1992 voir page 1, ligne 1 - page 7, ligne 35 ---	1
A	EP,A,0 322 384 (MEDIVIR AKTIEBOLAG C/O STATENS) 28 Juin 1989 voir le document en entier ---	1
		-/-

* Catégories spéciales de documents cités¹¹

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant poser un doute sur une revendication de priorité ou être cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.
- "A" document qui fait partie de la même famille de brevets

IV. CERTIFICATION

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 02 AOUT 1993	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 25.08.93
Administration chargée de la recherche internationale OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	Signature du fonctionnaire autorisé SCOTT J.R.

III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS ¹⁴		(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR LA DEUXIEME FEUILLE)
Catégorie ¹⁵	Identification des documents cités, ¹⁶ avec indication, si nécessaire des passages pertinents ¹⁷	No. des revendications visées ¹⁸
A	EP,A,0 217 580 (THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED) 8 Avril 1987 voir le document en entier -----	1

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.

FR 9300498
SA 74761

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

02/08/93

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication	
FR-A-2654106	10-05-91	Aucun		
WO-A-9114696	03-10-91	AU-A- 7759291 CA-A- 2079109 EP-A- 0537299	21-10-91 30-09-91 21-04-93	
EP-A-0481214	22-04-92	CA-A- 2051239 JP-A- 4230694	15-03-92 19-08-92	
EP-A-0322384	28-06-89	AU-A- 2452288 JP-A- 1151595	04-05-89 14-06-89	
EP-A-0217580	08-04-87	AU-B- 595832 AU-A- 6270286 CA-A- 1302263 GB-A- 2181128 AT-B- 390000 AT-B- 392794 AU-B- 572019 CA-A- 1238277 DE-A- 3608606 DE-A- 3645058 DE-A- 3645059 DE-A- 3687069 EP-A, B 0196185 EP-A, B 0291633 EP-A- 0306597 JP-A- 63290895 JP-A- 62103100 US-A- 4847244 US-A- 4818750 US-A- 4857511 US-A- 5145840 US-A- 5086044	12-04-90 19-03-87 02-06-92 15-04-87 26-02-90 10-06-91 28-04-88 21-06-88 18-09-86 02-02-89 05-01-89 10-12-92 01-10-86 23-11-88 15-03-89 28-11-88 13-05-87 11-07-89 04-04-89 15-08-89 08-09-92 04-02-92	